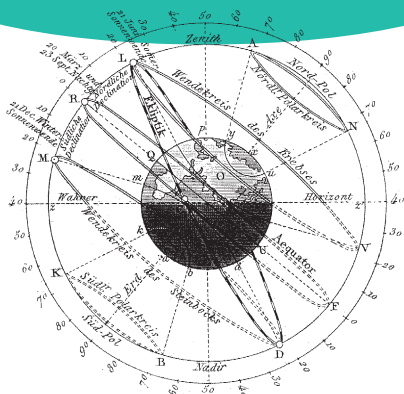


【解説】



昆虫による植物ホルモン生産 とゴール形成

鈴木義人

植物食昆虫が植物に形成するゴールは、色や形の多様性が高く、「どのようにして形成しているのだろうか？」と見ていただけに興味をひく。この形成機構にはまだまだ不明な点が多いが、昆虫が生合成する植物ホルモンが関与している可能性が少しずつ明らかになってきた。本稿では、ゴール形成と植物ホルモンについての現在の知見とともに、残された課題について紹介する。また、「見ていただけに興味をひくゴール」の真の形成機構の理解とはどういうものなのかについても、私見を述べたい。

はじめに

昆虫は地球上に70万から100万種類存在すると考えられ、現在知られている生物種の半分以上を昆虫が占めている。すなわち最も多様性に富んだ生物と言える。したがって、さまざまな興味深い環境への適応性を示し、驚くような能力を発揮する昆虫がいるが、そういった例の一つがゴール（gall）形成能であろう。「ゴール」は植物に寄生する生物が形成する異常組織だが、菌が作る菌えい、線虫やダニ、昆虫が作る虫えいなどが含まれるの

で、昆虫が作る「えい」だけを表す表現ではないが、一般に昆虫が形成するゴールの研究者は単に「ゴール」と呼ぶので、ここでは「昆虫えい」の意味で「ゴール」と呼ぶことにする。この昆虫によるゴールは、まさに昆虫の多様性を反映しており、ゴールの形や色、形成過程などで極めて高い多様性を示す。そこが生物現象としてのゴール形成の魅力であり、これまで適応的意義や進化過程を考える多くの研究対象となってきた。一方、その形成機構に関しても多数の研究が過去に行われているが、ほとんど未解明の状態が続いている。一般に、昆虫が産卵や摂食時に分泌する化学物質がゴール形成の刺激として働いていると考えられている。その根拠は、2つある。一つは、昆虫が取り付いた部位と異なるところにゴールが形成される例があることである。たとえば、フタテンチビヨコバエは吸汁性の昆虫だが、吸汁部位より上位の葉に異常が生じる⁽¹⁾。このような例はある種のゴール形成アブラムシでも知られている⁽²⁾。すなわち、移動性の化学物質がゴール形成に関与していることになる。しかし、これらは特別な例であり、普遍的に化合物の関与を示しているとは言えない。もう一つの根拠は、ある種のゴール形成昆虫の抽出物や唾液に、植物の組織

Plant Hormone Production by Insects for Gall Formation
Yoshihito SUZUKI, 茨城大学農学部

を変形させる活性が認められ、それがゴール形成の素過程の一つと考えられたことにある。たとえば、Leatherdaleは1955年に *Nature* 誌に以下のような報告をしている⁽³⁾。「セイヨウイラクサにゴールを形成するタマバエ幼虫を水で抽出し、葉の付け根にインジェクトしたところ、150回中12回柔組織の細胞が増えるという変化が見られた。」抽出材料を幼虫全体から頭部のみにすると、50回中9回活性が見られている。仮にこれがゴール形成に関連する活性を検出しているとしても、その再現性はとても低いことになる。同様の古い研究はいくつかあるが^(4,5)、いずれも再現性は低く、活性物質の同定には至っていない。一方、唾液に多く含まれるある種のアミノ酸など、既知物質に原因を求める研究も古くから行われてきた。そのなかで、植物ホルモン類の関与を想定して行われた研究も数多く存在する。ゴール組織やゴール形成昆虫に含まれるオーキシシンやサイトカイニンを対象とした研究は多いが、それらはとても古く、生物検定によるホルモン活性の検出にとどまっているものがほとんどである。また、オーキシシンなどを植物に処理することによって、ゴール形成過程の一部を説明できるという報告もある。近年になってGC/MSやLC/MSなどの同定・定量性の高い方法で植物ホルモン類の分析が行われた例も出てきており^(6~9)、そのなかには、昆虫に高濃度のオーキシシンやサイトカイニンが含まれているという報告もある。そのことは、昆虫からの刺激によって植物組織における植物ホルモン生産が促進されているという可能性のほかに、昆虫自身が植物ホルモンを生産して、それを利用して植物組織の状態を操作している可能性を示すものである。しかし、昆虫では、特定の食餌成分を高濃度に蓄積する現象が広く知られており⁽¹⁰⁾、昆虫に含まれる植物ホルモン類の由来は明らかになっていなかった。このような状況下でゴール形成における植物ホルモンの関与や由来を明らかにすべく、いくつかのゴールを対象に研究を行った。

研究材料について

ゴールの命名法には一定のルールがある。最初に植物名、そのあとゴールが形成される場所、ゴールの色や形などの性状と続き、最後にゴールを意味する「フシ」で終わる。ここで主に取り扱うシバヤナギハウラタマフシは「シバヤナギ」の「葉の裏」に形成される「玉状」のゴールである(図1)。春になり宿主のシバヤナギ(*Salix japonica* Thunb.)の開葉が始まると、寄生昆虫であるハバチ(*Pontania* sp.)の雌成虫が羽化直後に産卵を開始する。葉の裏の葉脈に斜めから産卵管を差し込み、葉脈を突き抜けた葉身基部に卵を生み付ける。雌成虫の腹部には卵台液と呼ばれる透明な液体の入った袋があり、産卵時に卵と一緒に一部が分泌される。Hovanitzは、アメリカシロヤナギ(*Salix alba*)にハバチ(*Pontania pacifica*)が形成するゴールを用い、この卵台液に初期のゴールを誘導する活性があることを次のように証明している⁽¹¹⁾。彼は、卵が生み付けられる前に卵台液が産卵管から分泌されることを利用し、卵台液のみが押し出された後、産卵が起こる前に成虫を取り除いてみた。それでも、初期ゴールが形成されたのである。われわれが対象としたゴールと外見や形成過程が酷似しており、ウリジン、尿酸、グルタミン酸などの卵台液の主要成分も一致していることから、われわれの材料でも卵台液がゴール形成の重要な研究対象と考えられた。この卵台液のみによる初期ゴールは、内部で幼虫が孵化しないとその後の発達は見られないが、幼虫が内部で摂食を始めると、さらにゴールは大きく発達する。ある程度大きくなると、サイズはそれ以上変わらなくなるが、内部組織は幼虫が摂食した分を補充するように成長を続ける。10月に入ると摂食部分の補充も終わり、ゴール内壁はどんどん薄くなり、10月末になると、幼虫はゴールに孔を開けて脱出し、土に潜って越冬する。したがって、卵台液および成長途中のゴール内部の幼虫が、ゴール形成にかかわる刺激物質を含んでいると考えられる。



図1 ■ (A) シバヤナギハウラタマフシの外観、(B) 内部の幼虫

ゴールはシバヤナギ葉の主脈沿いに形成される。薄く幅広の産卵管を葉脈に斜めに差し込んで産卵する。多いときは1枚の葉に数個以上のゴールが形成される。

植物ホルモンとゴール形成

形成昆虫ごとにさまざまな形状のゴールが存在するが、調べられた限りのゴールで維管束系が発達している。それは新たな植物組織として維持される以上、養分と水分が必要なので当たり前ではあるが、「ゴール形成能」には「維管束誘導能」が含まれることが必須条件となる。維管束の発達には従来よりオーキシンの関与が知られている。また、ゴールは、それが形成される元の組織の細胞がそのまま伸長や伸展して形成されるわけではなく、新たな細胞分裂によって全く新しい組織ができると考えられる。シバヤナギハウラタマフシの場合は、内部組織は、維管束系を除くと未分化なカルス様の組織に近く、細胞分裂の指標となるサイクリン遺伝子の発現量も元の葉に比べると高い⁽¹²⁾。このゴールのような玉状のゴール以外に、アブラムシがハルニレに形成するハルニレハフクロフシのように、葉の一部から急激に袋状の組織が成長してくるゴールの場合も、ゴール組織の細胞のサイズは小さく、葉の組織とは異なる細胞種であることから、新たな細胞分裂によってゴールが形成されていることがわかる（未発表）。細胞分裂を促進する主要な植物ホルモンはオーキシンおよびサイトカイニンである。以上の維管束の発達や細胞分裂はゴールにごく一般的に認められることから、これらの植物ホルモン類を対象に分析を行った⁽¹²⁾。その結果（図2）、産卵時に分泌される卵台液には、サイトカイニンのトランスリボシルゼアチン（*tZR*）が150 $\mu\text{g/g}$ fwという異常なまでに高い濃度で検出された。これは葉の主要サイトカイニンであ

るトランスゼアチン（*tZ*）の内生濃度の約15万倍に相当する。*tZR*はそれ自体は活性型ではなく、リボースが加水分解されると活性型の *tZ* に変換される。したがって、おそらく産卵時に卵周辺に分泌された *tZR* が植物由来の加水分解酵素によって活性型へと変換されつつ、初期のプチッとした瘤状のゴール形成に役立っていると考えられる。前述の Hovanitz などの研究では、卵台液中に構造未知のアデニン誘導体の存在が示唆されており⁽¹³⁾、おそらくこれが *tZR* ではないかと推測できる。彼らは卵台液にはサイトカイニン活性がないと報告していたため、卵台液中のサイトカイニンの存在は想定していなかったが、おそらく彼らが用いた生物検定系では *tZR* が活性型に変換して活性を示すことができなかったのではないかと推測される。

一方、成長が盛んな時期のゴール内の幼虫には葉の約100倍の濃度（1.1 $\mu\text{g/g}$ 新鮮重）のインドール酢酸（IAA、オーキシンの活性本体）と、約1,000倍濃度（1.3 $\mu\text{g/g}$ 新鮮重）の *tZ* が含まれていた⁽¹²⁾。これらの結果から、初期ゴールで孵化した幼虫のもつ植物ホルモン類が、ゴール内に維管束を誘導するとともに、さらにゴールを大きく発達させると考えられる。また、脱出後の幼虫ではいずれの植物ホルモン濃度も極端に減少しており、ゴールの形成・維持と植物ホルモン類との因果性がうかがわれる。

昆虫による植物ホルモンの生合成

ハバチ内の極めて高い濃度の IAA およびサイトカイ

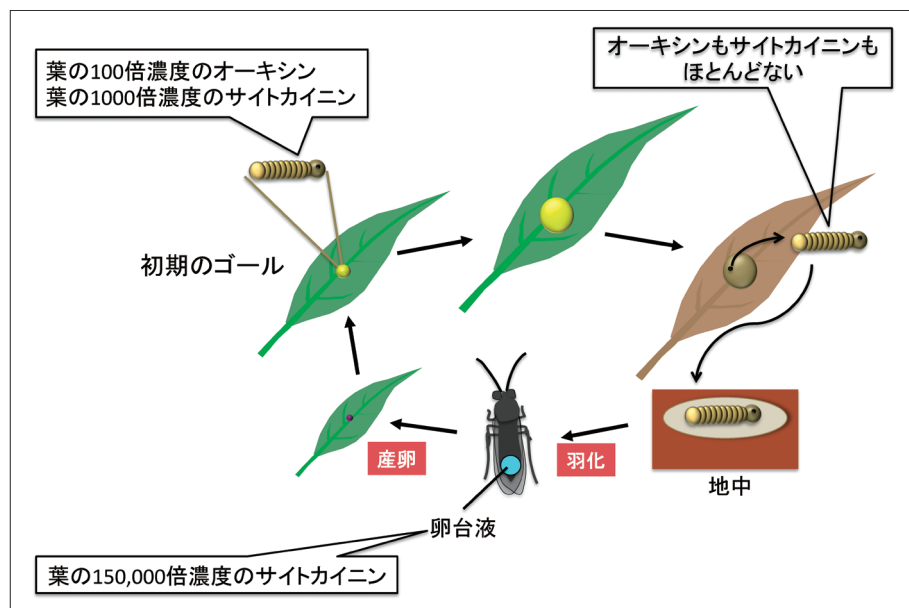


図2 ■ オーキシンおよびサイトカイニンの内生量のまとめ

雌成虫の腹部にある卵台液には極めて高濃度の *tZR* が含まれ、産卵とともに植物に与えられ、初期ゴールの形成に関与すると考えられる。内部で摂食中の幼虫にも、高濃度の IAA と *tZ* が含まれるが、秋に脱出した幼虫では、これらの植物ホルモン類の内生濃度は激減する。

ニンの存在は、ハバチによる植物ホルモン合成を強く示唆する。しかし、上述のように、昆虫には食餌成分を選択的に蓄積する現象が知られており、また、昆虫がオーキシンやサイトカインを生合成するという報告がこれまでなかったことから、生合成の化学的な検証を行った⁽¹²⁾。IAAについては、トリプトファン (Trp) を前駆体とする可能性が高いことから、 $[^{13}\text{C}_{11}, ^{15}\text{N}_2]\text{-L-Trp}$ を用いて代謝実験を行った。投与法の検討も行ったが、最終的にTrpを含む水に幼虫を浸けておくだけで、標識IAAの生成が確認された。また、ただの水に幼虫を浸けておき、そこから回収した水溶液にもIAAへの変換活性が認められ、それが熱処理によって失活したことから、酵素反応であることが判明した。現在までに生合成中間体候補も同定しており、植物とは異なる生合成機構を有すると考えている (未発表)。

サイトカニンについては、生合成の鍵反応であるアデノシンリン酸のイソペンテニル化活性が弱いながら認められている (未発表)。また、脱出後の幼虫にはほとんどサイトカニンが含まれていないにもかかわらず、その後、土に潜って越冬し、蛹化後、4月に羽化したときには腹部の卵台液に異常なまでに高い濃度の*tZR*が存在していることを考えると、自ら生合成していると考えないと不自然である。特に実験に用いた成虫は、脱出幼虫をオートクレーブしたパーミキュライトに潜らせ、越冬させたため、植物ホルモンを外界から摂取する可能性はほとんどない。おそらく羽化の時期が近づいたある時点から、急激に生合成能を発揮し始めると考えられる。すなわち、ハバチがオーキシンやサイトカニンの生合成能を進化的に獲得したことが、ゴール形成能の獲得につながったと想像できる。なお、昆虫では共生微生物がさまざまな働きをするが、昆虫による植物ホルモンの生合成に共生微生物がかかわっている可能性は否定できない。現時点で、IAAに関しては共生微生物によるものではないと考える状況証拠があるが、断定するためには生合成の分子レベルでの解析を進める必要がある。なお、ハバチによらず、これまでに調べたアブラムシ、タマバエなどのゴール形成昆虫には、いずれも宿主植物よりも高濃度の両植物ホルモンが含まれており、また、TrpからIAAへの変換活性も認められている⁽¹⁴⁾。したがって、ゴール形成昆虫のもつ植物ホルモン類は、かなり普遍的にゴール形成に関与していると推測できる。

植物ホルモンのゴール形成への関与

では、本当に昆虫がもつオーキシンやサイトカニン

はゴール形成に必須なのだろうか？ これを完全な形で証明するためには、ゴール形成昆虫のIAAやサイトカイン生合成能をなくしてみるしかない。たとえば昆虫に特異的なIAAの生合成阻害剤があれば、その処理によってハバチ中のIAA量の低下およびゴール形成の阻害が観察され、その効果を外部から投与したIAAが打ち消す、というような結果が得られれば良い。あるいは、生合成酵素が明らかになれば、ノックダウンにより生合成を止めることも可能かもしれない。そのためには、生合成の分子メカニズムの解明や、昆虫に特異的な阻害剤の探索が必要であり、現在の研究課題である。しかし、まずはゴール組織が、本当にオーキシンやサイトカニンが強く働いている組織であることを確認することも重要である。ゴール形成と植物ホルモンとの関連性については、これまでは組織観察に基づき、上述のような細胞分裂や維管束形成への関与という可能性から議論されていたに過ぎず、踏み込んだ解析がなされていなかった。オーキシンおよびサイトカインの信号伝達系は近年解析が急速に進み、受容体およびその下流で働く因子の多くが明らかになっている。そのなかで、ホルモンによって転写が誘導され、ホルモン作用のマーカーとして用いることのできる遺伝子がある。オーキシンについては、信号伝達の負の制御因子である*AUX/IAA*や代謝酵素の*GH3*が相当する。*AUX/IAA*はオーキシンが誘導すべき種々の遺伝子発現を制御する転写調節因子に結合し、発現誘導を抑える働きをもつ。また、*GH3*はIAAをアミノ酸との抱合体に変換し、不活化する酵素である。すなわち、外部から大量のオーキシンが投与されるなど、オーキシンが強く働いた状態になると、ホメオスタシスが働いて、それ以上のオーキシン作用を抑えるべく、負の制御因子が増えたり、不活性型への代謝が促進されたりする。また、サイトカニンにも同様の遺伝子が存在する。負の制御遺伝子は*type-A RR*と呼ばれるリン酸基転移反応にかかわる分子をコードする遺伝子であり、サイトカニンの不活化酵素遺伝子としては*CKX*が知られている。これらもサイトカニンが強く働くと発現が誘導される。シバヤナギハウラタマフシとシバヤナギの葉について、これらの遺伝子の発現量を解析すると、いずれの遺伝子もゴール組織で、その対照となる葉に比べて高い発現量を示した⁽¹²⁾。したがって、ゴールはやはりこれらの植物ホルモンがよく働いていると考えられる。すなわち、昆虫がもっている植物ホルモン類がゴール組織に与えられ、作用していることを支持する。

ゴール形成機構を本当に知るためには？

本稿ではゴール形成とオーキシシン、サイトカイニンといった植物ホルモンとの関連性を中心に記述してきた。既述のように、いまだ昆虫が生合成する植物ホルモンがゴール形成に関与しているという実証がなく、阻害剤の探索、昆虫における生合成機構の解明など残された課題は多い。しかし、昆虫が作り出す植物ホルモンがゴール形成に関与している可能性はすでに強く示唆されていると言えるのではないだろうか。では、ゴールの形成のどこまでを、これらの植物ホルモンで説明できるのだろうか。本稿の最初に、昆虫のゴールは魅力的だと書いた。その魅力はゴールのさまざまな形や色の多様性にある。その多様性は、活性物質の種類は同じでも、その与え方によって説明できるという説もある。たとえば、シバヤナギハウラタマフシの場合、中の幼虫は内部の空間を動き回って摂食しており、内壁に様の刺激を与えているのに対して、ヨモギにタマバエが形成するヨモギハエボシフシというゴールでは、幼虫がいつもゴールの基部（葉の側）にいて摂食している。そういった摂食場所の差異に対応するように、シバヤナギハウラタマフシは内から外への方向性しかない球状のゴールなのに対して、ヨモギハエボシフシは基部から上部へと極性をもった構造を取っている^(12, 14)（図3）。こういった違いは確かに摂食方法によって説明できるかもしれない。一方、ヨモギにはヨモギハエボシフシ以外にさまざまなタマバエが別種のゴールを形成する。ヨモギハエボシフシは赤いイチゴのような形をしており、表面は短い毛が生えているが、ヨモギクキワタフシという白い綿のようなふわふわ

とした毛で覆われているゴールもある。こういった同じ植物上にできる別種のゴールの明瞭な違いが、単に摂食方法による活性物質の与え方だけで説明できるとはとも思われないのである。だとしたら何かほかの物質も機能しているのであろうか。ヨモギハエボシフシは幼虫室の回りが、非常に二次細胞壁が発達した堅い細胞で覆われている。二次壁成分であるリグニンが大量に蓄積し、ほとんど細胞壁といった細胞が存在している。いわば組織が木質化しており、指で挟むとバキッと折れるような感じでつぶれる⁽¹⁴⁾。こういった特徴をもったゴールはほかにもあるし、おそらく植物が本来もっている抵抗性反応の表れと考えることができる。病原微生物の感染でリグニンが誘導されることが知られている。その場合、病原菌が出すエリシターと呼ばれる物質がリグニン形成の引き金を引くので、同様の機構が働いているとしたら、昆虫はやはり何らかのエリシターを出しているだろう。実際、植物が害虫の分泌するエリシターを感受して、揮発性物質の放散といった抵抗性反応を示すことも知られている⁽¹⁵⁾。食害昆虫が摂食中に分泌するエリシターは、いくつか構造の決まったものもあるが^(16~18)、アブラムシなど未同定のものも多い。ゴール形成機構を本当に理解するためには、こういったさまざまな物質を明らかにすることが必要であろう。そのためには、個々のゴールの特徴を捉えたアッセイ系を開発することが必要だし、まずは個々のゴールに関して、目に見える特徴のみならず、新しい視点から特徴を捉えることが必要であろう。一方、ゴール形成機構の解析を妨げている原因の一つに、昆虫も植物もモデル系ではなく、モデル系生物を用いることによる利点が一切欠如しているという点



図3 ■ (A) シバヤナギハウラタマフシの切片、(B) ヨモギハエボシフシの外観、(C) ヨモギハエボシフシの切片

(A) リグニン染色によって、中ほどの層に維管束が発達していることがわかる。幼虫はさまざまな場所を移動しながら摂食し、同心円状の構造をしている。(B) 赤いイチゴの様な色形をしている。主脈ではなく、支脈上に形成される。(C) 幼虫室の周辺は二次細胞壁が発達し木質化した細胞からなる組織に囲まれている。リグニン染色によって、高度にリグニンが沈着していることがわかる。また、幼虫は常に基部において摂食しており、基部から上部への方向性をもった構造をしている。

が挙げられる。遺伝子一つ取ってくるにも、相同性遺伝子のアライメントから始めなくてはならないし、多くの遺伝子がファミリーを形成しているので、最適な遺伝子がクローニングされているという確信がないままに発現解析などを行わなくてはならない。さまざまな生命現象が変異体の解析によって飛躍的に進んできたことを考えると、変異体を利用できる系の有用性は明確だ。移動性の刺激物質のところで触れたフタテンビヨコバエは、モデル植物であるイネも宿主とできるようであり⁽¹⁹⁾、ゴールとしては特殊性があるかもしれないが、それを差し引いても魅力ある材料である。ゴール形成はつまるところ、寄生昆虫からの刺激と、それを受けた植物の反応によって成り立つので、ゴール形成能が欠損した変異植物体を解析すれば、昆虫側の刺激物質の作用も類推できるだろうし、新たなアッセイ系の確立にもつながるかもしれない。こういった有用な実験系の開発も今後視野に入れておく必要がある。

近年、植物の組織培養や遺伝子導入などのバイオテクノロジー技術は、人為的な植物の操作の可能性を示してきた。しかし、1匹の昆虫が行う植物組織の操作には、いまだ負けているのではないだろうか。その仕組みの解明には大きな価値があるように思われる。

文献

- 1) K. Matsukura, M. Matsumura & M. Tokuda: *Naturwissenschaften*, **96**, 1059 (2009).
- 2) S. Sopow, J. D. Shorthouse, W. Strong & D. T. Quiring: *Ecol. Lett.*, **6**, 102 (2003).
- 3) D. Leatherdale: *Nature*, **175**, 553 (1955).
- 4) J. P. Martin: *Nature*, **96**, 39 (1942).
- 5) P. B. Jensen: *Physiol. Plant*, **1**, 95 (1948).
- 6) C. C. Mapes & P. J. Davies: *New Phytol.*, **151**, 195 (2001).
- 7) C. C. Mapes & P. J. Davies: *New Phytol.*, **151**, 203 (2001).
- 8) J. R. Straka, A. R. Hayward & R. J. N. Emery: *J. Plant Int.*, **5**, 197 (2010).
- 9) J. F. Tooker & C. M. De Moraes: *Arth.-Plant Int.*, **5**, 115 (2011).
- 10) S. E. W. Opitz & C. Muller: *Chemoecology*, **18**, 117 (2009).
- 11) W. Hovanitz: *Sci. Am.*, **201**, 151 (1959).
- 12) H. Yamaguchi, H. Tanaka, M. Hasegawa, M. Tokuda, T. Asami & Y. Suzuki: *New Phytol.*, **196**, 586 (2012).
- 13) D. R. McCalla, M. K. Genthe & W. Hovanitz: *Plant Physiol.*, **37**, 98 (1962).
- 14) T. Yuichiro, O. Koichi, T. Asami & Y. Suzuki: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 1942 (2013).
- 15) J. H. Tumlinson, W. J. Lewis & L. E. M. Vet: *Sci. Am.*, **268**, 100 (1993).
- 16) H. T. Alborn, T. C. J. Turlings, T. H. Jones, G. Stenhagen, J. H. Loughrin & J. H. Tumlinson: *Science*, **276**, 945 (1997).
- 17) E. A. Schmelz, M. J. Carroll, S. LeClere, S. M. Phipps, J. Meredith, P. S. Chourey, H. T. Alborn & P. E. A. Teal: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 8894 (2006).
- 18) H. T. Alborn, T. V. Hansen, T. H. Jones, D. C. Bennett, J. H. Tumlinson, E. A. Schmelz & P. E. A. Teal: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 12976 (2007).
- 19) M. Tokuda & M. Matsumura: *Appl. Entomol. Zool.*, **40**, 213 (2005).

プロフィール



鈴木 義人 (Yoshihito SUZUKI)

＜略歴＞1983年東京大学農学部農芸化学科卒業／1988年同大学大学院農学系研究科農芸化学専攻博士課程修了／同年米国・カリフォルニア大学ロサンゼルス校にて博士研究員／1990年日本学術振興会特別研究員（筑波大学遺伝子実験センター）／1991年東京大学農学部助手／2000年同大学大学院農学生命科学研究科助教授／2007年同准教授／2009年茨城大学農学部教授、現在に至る＜研究テーマと抱負＞植物と昆虫の物質的なかわり、特に、昆虫が作る植物ホルモンの意義について関心をもっています＜趣味＞水泳教室に通うこと、学生の成長を発見すること